

7. Мысляева Т. Г. Восстановление объемов жидкостей организма после дегидратации.— В кн.: V Всесоюз. конф. по физиологии почек и водно-солевому обмену, 28—30 марта, 1978 г. Л., 1978, с. 93—94.
8. Слоним А. Д. Проблемы физиологической адаптации и поведения в эколого-физиологических исследованиях.— Физиол. журн. СССР, 1969, 55, № 8, с. 920—928.
9. Страшко С. В. Периодичность обмена воды в организме: Автореф. дис. ... канд. биол. наук.— Киев, 1984.—24 с.
10. Cizek L. G. Long-term observation on relationship between food and water ingestion in the dog.— Amer. J. Physiol., 1959, 197, N 2, p. 342—346.
11. Cizek L. G. Relationship between food and water ingestion in the rabbit.— Ibid., 1961, 201, N 3, p. 557—566.
12. Cizek L. G., Nocenti M. R. Relationship between water and food ingestion in the rat.— Ibid., 1959, 208, N 4, p. 615—620.
13. Davis J. R. Decreased metabolic rates contingent upon lateral hypothalamic lesion-induced body weight losses in male rats.— J. Comp. Physiol. Psychol., 1977, 91, N 5, p. 1019—1031.
14. Grace J. E., Stevenson J. A. F. Thermogenic drinking in the rat.— Amer. J. Physiol., 1971, 220, N 5, p. 1009—1015.
15. Roper T. J., Nieto J. Schedule-induced drinking in the rat as a function of body weight deficit.— Physiol. and Behav., 1979, 23, N 4, p. 673—678.
16. Wirtshafter D., Asin K. E. A comment on the practice of expressing food and water intake as a proportion of body weight.— Ibid., 1982, 28, N 1, p. 183—185.

Ин-т физиологии Киев. ун-та

Поступила 23.08.84

УДК 615.373:616.36—002

Т. М. Брызгина, Т. В. Мартынова

ИЗМЕНЕНИЕ БЛАСТТРАНСФОРМАЦИИ ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ПЕЧЕНЬ

При некоторых заболеваниях печени наблюдаются изменения клеточного иммунитета [5, 6, 8, 11]. Неизвестно, генерируются ли эти изменения процессами, происходящими в печени, или являются только сопутствующими. Для выяснения этого вопроса важно провести экспериментальные исследования в условиях направленных воздействий на печень, меняющих ее функциональное состояние.

Для экспериментального поражения печени широко используется четыреххлористый углерод (CCl_4), а также большие дозы противопеченочных антител. Малые же дозы противопеченочных антител, примененные на фоне поражения печени CCl_4 , способствуют нормализации нарушенных функций и структур печени [1, 2, 3].

Одним из тестов, используемых для изучения клеточного иммунитета, является реакция бласттрансформации (РБТ) лимфоцитов крови на неспецифический митоген — фитогемагглютинин (ФГА), отражающая функциональную активность Т-лимфоцитов, главным образом их T_2 -субпопуляции [7, 10, 14, 15, 17].

Мы изучали изменения бласттрансформации лимфоцитов крови крыс в ответ на ФГА в условиях различного функционального состояния печени, моделируемого с помощью CCl_4 и разных доз гамма-глобулиновой фракции антигепатоцитотоксической сыворотки (γ -АГЦС).

Методика. Исследования проведены на 140 крысах линии Вистар обоего пола массой 120—160 г. АГЦС получали посредством иммунизации кроликов водно-солевым экстрактом печени крыс. Для работы использовали серии сывороток, характеризующиеся в реакции связывания комплемента максимальным титром с печенью (1:320—1:800); минимальным титром (1:10—1:20) или отсутствием титра с селезенкой, лимфоузлами, тимусом и костным мозгом. Гамма-глобулиновую фракцию АГЦС выделяли посредством многократного осаждения сернокислым аммонием.

CCl_4 вводили крысам под кожу в виде 50 % масляного раствора в дозе 0,3—0,4 мл/100 г массы тела трехкратно, с интервалом в два дня. Большие дозы γ -АГЦС

вводили пятикратно, ежедневно по 2,5 мг белка / 100 г массы тела, внутривенно. Малые дозы γ -АГЦС — трехкратно на фоне применения CCl_4 в дозе 0,06 мг / 100 г массы тела на следующий день после каждого введения CCl_4 . Контролем служили интактные крысы и крысы, которым вводили гамма-глобулиновую фракцию нормальной кроличьей сыворотки (γ -НКС). Кровь для исследования брали на третьи и десятые сутки после последнего введения препаратов.

Использована микромодификация метода РБТ [9]. ФГА (фирмы «Wellcome» и фирмы «Reopal») применяли в дозе 20 мкг / мл питательной среды № 199. Количество трансформированных клеток (бластов и бластоподобных переходных клеток) учи-

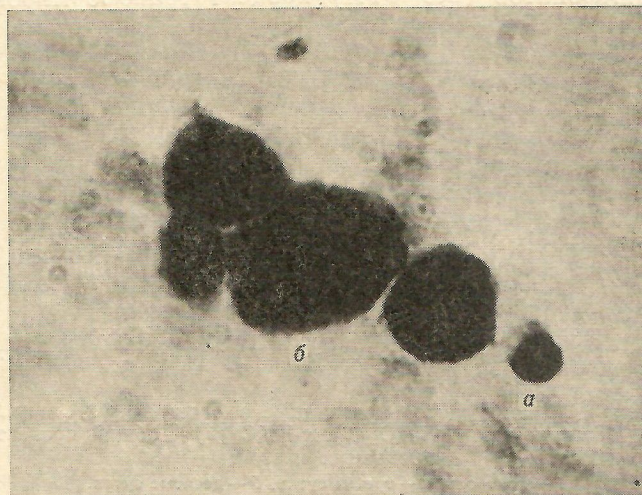


Рис. 1. Бласттрансформация лимфоцитов крови крыс в ответ на ФГА.

а — малый лимфоцит, б — бласт. Окраска азур-эозином. $\times 500$.

тывали морфологически при подсчете 500—1000 клеток на препаратах, окрашенных азур-эозином. Полученные данные обработаны статистически с использованием критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. В результате проведенных исследований установлено, что в трех-четырёхдневных культурах лимфоцитов периферической крови интактных крыс без добавления ФГА сохраняется высокий процент нормальных лимфоцитов, и только очень незначительная часть их подвергается спонтанной трансформации ($0,87 \pm 0,19$). Добавление к культурам ФГА вызывало выраженный эффект трансформации — образование как бластоподобных, так и бластных форм (рис. 1), при этом общий процент трансформированных клеток в наших условиях опыта составил 10,87 %. В отдельных случаях наблюдались митозы в клетках.

В культурах клеток-лимфоцитов (без ФГА), изъятых у животных на третьи сутки после введения больших доз γ -АГЦС и γ -НКС, отмечалось некоторое снижение общего процента трансформированных клеток (γ -АГЦС— $0,55 \pm 0,11$, γ -НКС— $0,57 \pm 0,08$) в сравнении с культурами клеток от интактных животных ($0,87 \pm 0,19$). В культурах лимфоцитов, изъятых на десятые сутки, количество трансформированных клеток увеличивалось, превышая уровень в контроле в 2—3,5 раза (γ -АГЦС— $3,42 \pm 0,64$, $p < 0,01$; γ -НКС— $2,03 \pm 0,51$, $p < 0,01$).

В опытах с добавлением ФГА, как видно на графике (рис. 2), отмечается однонаправленность изменений ответа на митоген при введении животным больших доз γ -АГЦС и γ -НКС. Так, на третьи сутки после введения препаратов количество трансформированных клеток в культурах лимфоцитов достоверно снижалось ($p < 0,001$) по сравнению с контрольными культурами от интактных животных. В культурах лимфоцитов, изъятых на десятые сутки исследования, наблюдалась

тенденция к восстановлению иммунного ответа на ФГА — общий процент трансформированных клеток и процент бластов достоверно ($p < 0,01$) увеличивался по сравнению с третьими сутками исследования, но оставался ниже, чем в культурах лимфоцитов от интактных животных. Восстановление ответа на митоген происходило несколько интенсивнее у животных, получавших γ -АГЦС (γ -АГЦС — $4,78 \pm 1,21$, γ -НКС — $2,79 \pm 0,46$).

Изучение РБТ на фоне поражения печени CCl_4 показало, что как на третьи, так и на десятые сутки после последнего введения CCl_4 в культурах лимфоцитов (без ФГА) процент трансформированных кле-

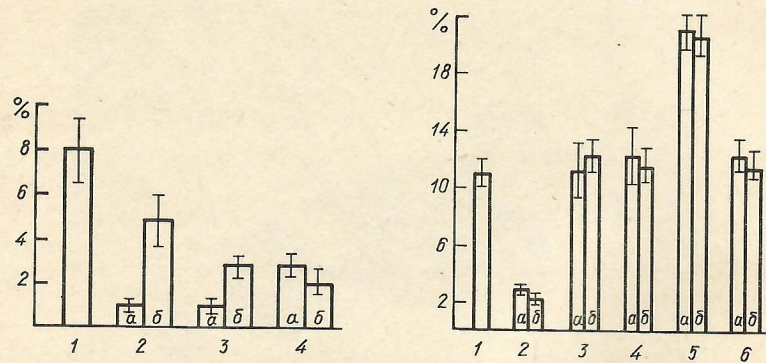


Рис. 2. Изменение РБТ лимфоцитов крови крыс в ответ на ФГА в условиях применения CCl_4 (4), больших доз γ -АГЦС (2), γ -НКС (3) — общий процент трансформированных клеток.

1 — контроль, а — третьи сутки, б — десятые сутки.

Рис. 3. Изменение РБТ лимфоцитов крови крыс в ответ на ФГА в условиях применения малых доз γ -АГЦС и γ -НКС на фоне введения CCl_4 и у интактных (контрольных) животных (общий процент трансформированных клеток).

1 — контроль, 2 — CCl_4 , 3 — γ -АГЦС, 4 — γ -НКС, 5 — $\text{CCl}_4 + \gamma$ -АГЦС, 6 — $\text{CCl}_4 + \gamma$ -НКС; а — третьи сутки, б — десятые сутки.

ток достоверно не отличался от контрольных величин (CCl_4 — $0,83$ — $0,81$, интактные — $0,87$). В культурах с добавлением ФГА (в эти же сроки) наблюдалось достоверное ($p < 0,01$) угнетение ответа на митоген по сравнению с контрольными культурами от интактных животных (CCl_4 — $2,79 \pm 0,46$ — $2,11 \pm 0,2$; интактные — $7,97 \pm 1,45$).

Исследования, проведенные по изучению РБТ в условиях применения малых доз γ -АГЦС на фоне поражения печени CCl_4 , показали достоверное ($p < 0,01$) усиление спонтанной (без ФГА) трансформации клеток по сравнению с РБТ у животных, получавших только CCl_4 . Эти изменения были выражены как на третьи, так и на десятые сутки исследования. При использовании γ -НКС в тех же условиях увеличение числа трансформированных лимфоцитов было выражено в меньшей степени ($\text{CCl}_4 + \gamma$ -АГЦС — $6,61 \pm 0,93$, $\text{CCl}_4 + \gamma$ -НКС — $4,23 \pm 0,14$).

На рис. 3. представлены данные об изменении общего процента трансформированных клеток под влиянием ФГА в культурах лимфоцитов, полученных у животных на третьи и десятые сутки после введения малых доз γ -АГЦС и γ -НКС интактным животным, а также на фоне применения CCl_4 . Введение малых доз γ -АГЦС на фоне поражения печени CCl_4 резко стимулировало интенсивность ответа на ФГА в РБТ. Количество трансформированных клеток в два раза (3—10 сут) превышало их уровень в контроле и почти в 10 раз — в опытах с применением одного CCl_4 . Малые дозы γ -НКС также оказывали некоторое стимулирующее влияние на интенсивность РБТ, но значительно менее выраженное, чем γ -АГЦС. На третьи и десятые сутки после введения γ -НКС на фоне CCl_4 отмечалось четырехкратное увеличение количества трансформированных клеток по сравнению с применением одного CCl_4 , по сравнению же с контролем существенного увеличения интенсивности РБТ не наблюдалось ($p > 0,05$).

Введение малых доз γ -АГЦС и γ -НКС интактным животным практически не оказывало влияния на интенсивность ответа на ФГА ($p > 0,05$).

Полученные данные свидетельствуют о том, что изменение функционального состояния печени у крыс влияет на функциональную активность Т-лимфоцитов крови. Повреждение печени и нарушение ее функций CCl_4 или большими количествами противопеченочных антител угнетает функциональную активность лимфоцитов крови (по данным реакции бласттрансформации). При восстановлении нарушенных функций с помощью малых доз противопеченочных антител происходит стимуляция функциональной активности лимфоцитов крови крыс в реакции бласттрансформации в ответ на ФГА. Тот факт, что малые дозы γ -АГЦС, примененные интактным животным, не стимулируют РБТ лимфоцитов крови, свидетельствует о том, что γ -АГЦС не влияет непосредственно на лимфоциты. При изучении действия γ -АГЦС на функции печени было показано, что противопеченочные антитела в малых количествах способствуют нормализации нарушенных функций, но не оказывают влияния на функции интактной печени [1]. На основании этих данных можно полагать, что стимуляция бласттрансформации лимфоцитов при введении малых доз γ -АГЦС на фоне поражения печени происходит благодаря восстановлению функционального состояния печени.

Механизмы, с помощью которых реализуется влияние изменений функционального состояния печени на интенсивность бласттрансформации лимфоцитов, по-видимому, сложны и многообразны. Можно ожидать, что изменение некоторых видов обмена веществ в печени будет оказывать влияние на РБТ, поскольку известно, что гуморальный и клеточный иммунитет нарушаются при дефиците белка в пище [12], при дефиците ферментов пуринового обмена [16] и т. д.

В полученных нами результатах трудно объяснить факт, почему применение больших доз γ -НКС вызывает такое же (или даже более выраженное) снижение интенсивности бласттрансформации лимфоцитов, как и применение больших доз γ -АГЦС. По-видимому, можно предположить, что в сыворотке интактных животных имеется какой-то фактор, тормозящий бласттрансформацию. Возможно, этот фактор близок тому, который выделен из интактной печени человека [13].

Выводы. Введение крысам CCl_4 или больших доз γ -АГЦС, поражающих печень, вызывает снижение функциональной активности Т-лимфоцитов крови в реакции бласттрансформации в ответ на ФГА, особенно в ранние сроки исследования.

Применение малых доз γ -АГЦС, способствующих нормализации нарушенных CCl_4 функций печени, приводит к выраженной стимуляции реакции бласттрансформации лимфоцитов крови в ответ на ФГА.

Bryzgina T. M., Martynova T. V.

CHANGES IN THE BLASTTRANSFORMATION OF RAT BLOOD LYMPHOCYTES UNDER CONDITIONS OF EXPERIMENTAL EFFECT ON THE LIVER

Changes in the blasttransformation of rat blood lymphocytes in response to RNA were studied under conditions of different functional state of the liver which is simulated by means of tetrachloromethane (CCl_4) and different doses of gamma-globulin fractions of antihepatocytotoxic serum (γ -AHCS). It is established that either CCl_4 or high doses of AHCS affecting the liver administered to the animals induce inhibition of functional activity of T-lymphocytes from blood in the blasttransformation reaction in response to PHA. Application of low γ -AHCS doses promoting normalization of CCl_4 -disturbed liver functions results in the pronounced stimulation of the blasttransformation reaction in response to PHA mitogen.

A. A. Bogomolets Institute of Physiology,
Academy of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev